

Institut für Versuchstierkunde und Versuchstierkrankheiten des
Fachbereichs Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin
Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. N.-C. Jühr

**UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN EINFLUSS VON
ENERGIE- UND PROTEINGEHALT IN DER ERNÄHRUNG
AUF DIE ENTWICKLUNG VON SPF-RATTEN**

Inaugural - Dissertation

zur

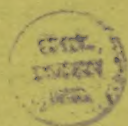
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Ossenbrink, Maria

Feilnbach

1983



Institut für Versuchstierkunde und Versuchstierkrankheiten des
Fachbereichs Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin
Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. N.-C. Jühr

**UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN EINFLUSS VON
ENERGIE- UND PROTEINGEHALT IN DER ERNÄHRUNG
AUF DIE ENTWICKLUNG VON SPF-RATTEN**

Inaugural - Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Ossenbrink, Maria
Feilnbach

Referent: Prof. Dr. D. Neubert

Korreferent: Frau Prof. Dr. L. Ballowitz

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 09.08.1983



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546605_0067

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1 EINLEITUNG	5
2 ALLGEMEINE VORBEMERKUNGEN UND LITERATURÜBERSICHT	6
2.1 Fehlernährung/Fehlentwicklung	6
2.2 Fehlernährung und Gewichtsentwicklung bei der Ratte	9
2.3 Proteinmangel und RNA/DNA-Gehalt in der Rattenleber	12
2.4 Proteinmangel und Serumproteine	15
3 EIGENE UNTERSUCHUNGEN	16
Material und Methode	16
3.1 Versuchstiere	17
3.2 Futter	17
3.3 Versuchsdurchführung	19
3.4 Bestimmung des RNA- und DNA-Gehaltes in den Rattenlebern	20
3.4.1 Extraktion von RNA und DNA	20
3.4.2 Herstellung der Reagenzien	21
3.4.3 Farbstoffreaktionen und Standard	21
3.4.4 Berechnung der RNA- und DNA-Gehalte in den Rattenlebern	24
3.4.5 Berechnung des Methodischen Fehlers	25
3.5 Bestimmung des Serum-Gesamteiweiß- und des Stickstoffgehaltes der Rattenlebern	27
3.6 Statistik	27

4	ERGEBNISSE	28
4.1	Gesamtfutterraufnahme	29
4.2	Gesamtenergieaufnahme	29
4.3	Gesamtproteinaufnahme	29
4.4	Gesamtenergieaufnahme ohne Proteinenergie (NP-Energie)	30
4.5	Körpergewichtszunahmen	30
4.6	Lebergewichte bei Versuchsende	31
4.7	Zunahmen und Energie/Protein-Quotient	31
4.8	Zusammenfassung der Ergebnisse "Grobkriterien"	37
4.9	Einteilung der Ratten in Zunahmegruppen	40
4.10	Gesamtproteingehalt der Rattenserren	41
4.11	Stickstoffgehalt der Rattenlebern	42
4.12	RNA- und DNA-Gehalt der Rattenlebern Verteilungstypen Mittelwertsdifferenz Streuungsdifferenz	43
4.13	Zusammenfassung der Ergebnisse "Feinkriterien"	45
5	DISKUSSION	46
6	ZUSAMMENFASSUNG	50
7	LITERATURVERZEICHNIS	52
8	TABELLEN	56
	LEBENS LAUF	67

1 EINLEITUNG

Das Problem der Ernährung der Bevölkerung der Erde darf nicht nur unter einem quantitativen Gesichtspunkt gesehen werden. Es ist auch ein Problem der Ernährungs-Qualität. Dem muß auch bei der experimentellen Forschung Rechnung getragen werden. Sollen - wie in der Pränatal-Toxikologie geplant - Zusammenhänge zwischen Fehlernährung und Fehlentwicklung geklärt werden, muß das entsprechende Tiermodell genau bekannt sein.

Während eine quantitative Fehlernährung - also Unterernährung - mit sogenannten "Grobkriterien" wie Gewichts- und Organentwicklung relativ einfach zu erfassen ist, müssen bei qualitativer Fehlernährung zusätzliche Parameter herangezogen werden, um Ernährungsschäden, die sich nicht sofort auf die Gewichtsentwicklung auswirken, erfassen zu können.

Ziel dieser Arbeit ist es, bei verschiedenen experimentellen Ernährungsformen (z. B. bei verändertem energetischen Gehalt oder Proteingehalt der Nahrung) zusätzliche Parameter (Serumprotein, DNA/RNA-Werte der Leber) daraufhin zu überprüfen, ob sie sich eignen, eine "subklinische" Fehlernährung, die sich nicht in der Gewichtsentwicklung manifestiert, feststellen und analysieren zu können.

2 ALLGEMEINE VORBEMERKUNGEN UND LITERATURÜBERSICHT

2.1 Fehlernährung/Fehlentwicklung

Experimentelle Ernährungsversuche am Menschen sind nicht durchzuführen, leider gibt es jedoch genügend "unfreiwillige" Versuche. Einflüsse der Ernährung schwangerer Frauen auf das Gedeihen der Frucht wurden anhand von unter- bzw. fehlernährten Bevölkerungsgruppen und in Hungerkatastrophen und Kriegen abgeleitet.

So hat z. B. in den Jahren 1938 - 1939 die "Peoples League of Health" in Großbritannien 5000 schwangere Frauen betreut und überwacht, von denen eine bestimmte Gruppe (willkürlich gewählt) Zulagen in Form von Eisen, Calcium, den Vitaminen B, C, A und D erhielten. - "Der Vergleich der supplementierten mit der nicht supplementierten Gruppe ergab einen signifikanten Unterschied hinsichtlich Frühgeburtslichkeit (Graviditätsdauer unter 40 Wochen) und Geburtsgewicht. Das Auffallendste und für die beiden Differenzen vielleicht Ursächliche war jedoch eine Reduktion der Toxämie-Frequenz um 30 %! Spätere Untersuchungen über den Einfluß der Eiweiß-Ernährung auf die Häufigkeit von Schwangerschaftstoxämie ergaben tatsächlich eine eindeutige Korrelation zwischen eiweißarmer Ernährung der Schwangeren und Toxämiefrequenz."

Ein anderes Beispiel für eine großangelegte Untersuchung über die Ernährungslage Gravider und einen Einfluß auf die Frucht lieferten VENKATACHALAM et al. (1954), die 352 Frauen in Südindien untersuchten, die sich mit ihrer normalen Kost ernährten. (Durchschnittswerte: 1400 kcal/Tag, 38 g Eiweiß/Tag, vorwiegend pflanzliches Eiweiß.)

Diese Frauen (der sozial schlecht gestellten Bevölkerungsschicht) wurden den Frauen von Zivil- und Armeeoffizieren * gegenübergestellt (als wohlhabend bezeichnet).

* aus THALHAMMER: Pränatale Erkrankungen des Menschen

"Das Durchschnittsgewicht der Neugeborenen der ersten Gruppe lag bei 2810 g, gegenüber 3182 g der zweiten Gruppe, und die Frühgeborenrate war 29,3 % gegen 13,8%. 23 Frauen der ersten, mangelernährten Gruppe wurden zu Vit.A-Blutspiegeluntersuchungen in der 36. Schwangerschaftswoche hospitalisiert, wodurch sie in den letzten 4 Wochen der Schwangerschaft bei körperlicher Ruhe eine Kost mit mehr als 2500 kcal und ca. 85 g Eiweiß pro Tag erhielten. Die Kinder dieser Frauen hatten ein durchschnittliches Geburtsgewicht von 2986 g gegenüber 2794 g von 394 gleichzeitig geborenen Kindern derselben Bevölkerungsschicht, deren Mütter erst zur Entbindung aufgenommen worden waren".

Die Wichtigkeit derartiger Untersuchungen und die Notwendigkeit, Versuche am Säugetier durchzuführen, ist offensichtlich. Es häufen sich in letzter Zeit die Vermutungen, daß insbesondere der intrauterine Proteinmangel, aber auch der Energiemangel das wachsende Gehirn bleibend schädigen. So holten junge Ratten (WINIK, M. 1972), deren Muttertieren während der Tragezeit eine Eiweißmangelernährung (6 % Casein) verabreicht wurde, weder Körpergewicht noch Organgewichte auf, im Besonderen waren RNA- und DNA-Gehalt in allen Organen einschließlich Gehirn reduziert.

WINIK schreibt in "Perinatale Medizin": "Beim Menschen reduziert Fehlernährung während des ersten Lebensjahres die Anzahl der Zellteilungen mit dem Ergebnis eines geringeren Zellgehaltes des ganzen Gehirns."

Bei Ratten ist die Körpergewichts- und Gehirnentwicklung am stärksten während der ersten 21 Lebenstage zu beeinflussen (Säugeperiode), in der Zeit also, in der sich das größte Gehirnwachstum vollzieht.

DOBBING, J. (1968) teilte in einem Versuch mit männlichen Ratten zunächst nach der Wurfgröße als Kennzeichen für optimal bzw. unterernährte Tiere ein: Gruppe I (maximal 3 Tiere pro Wurf) und Gruppe II (mindestens 15 Tiere pro Wurf). Diese Tiere wurden in ihren Würfen 21 Tage lang gesäugt.

Dann wurden von diesen Tieren 4 Gruppen gebildet:

Kontrollgruppe: Optimal ernährte Tiere (von Gruppe I),
die nach dem Absetzen 8 Wochen lang Futter
ad libitum erhielten

Gruppe 1: Unterernährte Tiere (von Gruppe II),
die auch für 8 Wochen ad libitum ernährt
wurden

Gruppe 2: Unterernährte Tiere (von Gruppe II),
die im genannten Zeitraum eingeschränkte
Diät erhielten

Gruppe 3: Optimal ernährte Tiere (von Gruppe I),
die ebenso für 8 Wochen die eingeschränkte
Diät erhielten

Körpergewichte und Gehirngewichte aller 3 Gruppen waren am
Versuchsende geringer als die der Kontrollgruppe. Die nied-
rigsten Gehirngewichte wies Gruppe 2 auf.

In einem Versuch mit ausgewachsenen Ratten hingegen hat
DOBBLING festgestellt, daß die unterernährten Tiere, die nach
5 Wochen Versuch durchschnittlich nur noch 55 % des Körper-
gewichts einer Kontrollgruppe wogen, kein Defizit an Gehirn-
gewicht und Gehirn-DNA gegenüber der Kontrollgruppe zeigten.

Im folgenden sollen Tierversuche geschildert werden, die
unter das Thema "Physiologie der Fehlernährung" fallen. Sie
werden nach den beiden Gesichtspunkten

"Fehlernährung und Gewichtsentwicklung bei der Ratte" und

"Proteinmangel und RNA-/DNA-Gehalt in der Rattenleber"
geordnet.

2.2 Fehlernährung und Gewichtsentwicklung bei der Ratte

Alle Untersucher haben ein erhebliches Körpergewichtsdefizit fehlernährter Tiere gegenüber mit Standarddiäten ernährten Kontrollgruppen festgestellt, und nennen hierfür 2 Ursachen:

1. qualitative Fehlernährung
2. erheblich reduzierte Futteraufnahme bei fehlernährten Versuchstieren trotz ad libitum-Fütterung

Beispiele:

DALLMANN (1973) fand bei weiblichen Absatzratten, die mit verschiedenen Diäten ernährt wurden, große Differenzen in der Gewichtsentwicklung. Die Versuchsgruppe erhielt ein Futter, das 3,5 % Protein enthielt, die Kontrollgruppe 26 % Protein. Der Versuch startete am 28. Lebenstag und dauerte 14 Tage lang. Zu Beginn wogen die Tiere im Durchschnitt $87,8 \pm 1,0$ g; am Tag darauf betrug das Gewicht der protein-mangelernährten Tiere $83,5 \pm 1,5$ g, deutlich weniger als $93,3 \pm 1,4$ g der Kontrolltiere.

Am Ende des Versuchs nach 14 Tagen wogen die normal ernährten Ratten doppelt so viel wie die fehlernährten Tiere!

($75,0 \pm 1,2$ g bei den 3,5 % Protein-ernährten, $159,3 \pm 5,5$ g bei den mit 26 % Protein ernährten Ratten.)

Die Futteraufnahme hatte sich nach erheblichen Schwankungen auf 6 g/Tag (3,5 % Protein) und 13 g/Tag (26 % Protein) eingependelt.

Nach kurzdauernden Hungerperioden können die Tiere u. U. das Normalgewicht schnell wiedergewinnen, wie HOBICK in einer Arbeit von 1973 zeigt.

Er gab einer Kontrollgruppe männlicher Wistar-Ratten von 125 - 150 g eine normale Diät, die Versuchsgruppe dagegen mußte 7 Tage lang hungern. In der Wiederfütterungsphase wurde das Ausgangsgewicht bereits nach 2 Tagen erreicht. - Allerdings muß man hervorheben, daß von 48 Versuchstieren 30 während des Versuchs gestorben sind. -

In einer ähnlichen Arbeit von SACHAN (1975) gibt es auch große Unterschiede im Körpergewicht bei unterschiedlich ernährten Ratten. Nach 33 Versuchstagen wogen Tiere mit 3,5 % Protein in der Diät 51,8 g (männl.) und 58,5 g (weibl.); die mit 26 % Protein ernährten Kontrolltiere 196,9 g (männl.) und 173,8 g (weibl.); eine mit 42 % Protein ernährte Gruppe 229,8 g (männl.) und 172,2 g (weibl.).

ANTHONY und EDOZIEN (1975) versuchten zwei ernährungsbedingte Krankheitsbilder aus der Humanmedizin im Tierversuch zu imitieren.

Die männlichen Ratten wogen zu Beginn des Versuchs 100-130 g, die Versuchsdauer betrug 8 - 10 Wochen.

Die erste große Versuchsgruppe erhielt eine Diät mit unterschiedlichem Lactalbumingehalt ad libitum.

Nach Beendigung des Versuchs war das Durchschnittsgewicht der Tiere folgendes:

Bei	0,5 % Lactalbumin:	65 g
"	1,0 % " :	66 g
"	2,0 % " :	91 g
"	3,0 % " :	140 g
"	18,0 % " :	543 g (!)

Der RNA-Gehalt der Lebern in mg/g Leber unterschied sich kaum, der DNA-Gehalt war in den Lebern der mit 18 % Lactalbumin ernährten Ratten stark erniedrigt.

Die Ernährung mit den niedrigen Lactalbumingehalten (0,5 - 3 %) ist als Eiweißmangelernährung kennzeichnend für das Krankheitsbild des Kwashiorkor (Mehlnährschaden). Kinder mit dieser Erkrankung sind im Wachstum retardiert, zeigen Ödeme, Anämie und meist Fettlebern.

ANTHONY und EDOZIEN (1975) gaben diese Diät einer anderen Versuchsgruppe zudem noch beschränkt, d. h. es wurden anfangs 5 g/Tier am Tag, später nur 4 g/Tier am Tag verfüttert. Er erhielt Endkörpergewichte, die unter den niedrigsten obengenannten Gewichten lagen (56 g), und zwar für alle Lactalbuminstufen gleich!

Die begrenzte Futteraufnahme ist kennzeichnend für den Marasmus (Mangelernährung bei qualitativ ausreichender Kost), der nach Wachstums- und Entwicklungsretardierung, später Gewichtsverlust, unter extremer Schwäche zum Tode führt.

Diese Beispiele aus der Literatur mögen als Hinweis darauf genügen, daß das Hauptkriterium für Fehlernährung oder ausreichende Ernährung bei Mensch und Tier die Gewichtsentwicklung ist. Sie zeigen aber auch ansatzweise auf, wie unzulänglich dieses Kriterium ist. An Kwashiorkor erkrankte Kinder z. B. weisen ein "normales" Körpergewicht auf, haben aber Fettlebern und Eiweißmangelödeme, also große Stoffwechselschäden.

Mehrere Untersucher haben festgestellt, daß es eine Korrelation zwischen Proteinaufnahme und RNA- bzw. DNA-Synthese gibt. Da die Leber das Organ mit der größten Proteinsyntheserate ist, müßte sich Fehl- oder Mangelernährung am ehesten dort durch Messung der RNA- und DNA-Gehalte bestimmen lassen.

Für den Proteinstoffwechsel spielt die Leber durch die Aminosäuresynthese, die Synthese von Proteinen und den Aminosäureabbau eine zentrale Rolle. Bei Eiweißmangelernährung kommt es zu einer schnellen Mobilisierung von Proteinen in der Leber, bevor der Eiweißgehalt anderer Organe bzw. des Plasmas abnimmt, obwohl die Leber zur Proteinspeicherung nicht fähig ist.

Veränderungen im Leberaufbau wurden in vielen Ernährungsversuchen beim Versuchstier als Meßgrößen für Protein/Energie-Fehlernährung verwandt.

Die folgenden Arbeiten wurden mit dem Versuchstier Ratte durchgeführt.

Die Angaben über den Nährstoffbedarf der Ratte weisen in der Literatur erhebliche Unterschiede auf.

Das zur Zeit handelsübliche Ratten-Haltungsfutter enthält 19 % - 24 % Protein und hat einen Brennwert von 2800 - 3200 kcal/kg.

2.3 Proteinmangel und RNA/DNA-Gehalt in der Rattenleber

Von mehreren Autoren, z. B. WINICK et al. (1966), ZAMENHOF et al. (1974) wurde festgestellt, daß Ratten bei kalorien- oder proteinarmer Ernährung in verschiedenen Organen, besonders aber in Gehirn und Leber, niedrigere RNA- und DNA-Werte aufweisen als normalernährte Tiere. MUNRO hatte schon 1952 bei p^{32} -Einbau-Studien gefunden, daß die Leber-RNA durch unterschiedliche Energiezufuhr ($900 - 1900 \text{ kcal/m}^2$ Körperoberfläche/Tag) stark beeinflußt wird. Bei eingeschränkter Kalorienaufnahme ergaben sich niedrigere RNA-Werte.

PATTEN stellte 1973 den direkten Zusammenhang zwischen zunehmender Proteinfütterung und Zunahme der Leber-RNA dar. Er verfütterte männlichen ausgewachsenen Wistar-Ratten eine proteinfreie Basisdiät, und zwar 1 Woche lang ad libitum, danach die Hälfte der ad libitum aufgenommenen Menge für weitere 19 Tage. Die so vorbehandelten Tiere wurden dann 5 Tage lang mit einer 3-, 6-, 9 % Hühnerei-Protein-haltigen Diät ernährt. Bei Bestimmung der Leber-RNA stellte sich heraus, daß die mit 3 % Protein ernährten Tiere einen RNA-Gehalt von 5,53 mg/g Leber, die mit 6 % ernährten Tiere RNA von 5,61 mg/g Leber, und die mit 9 % Protein ernährten Tiere 6,28 mg RNA/g Leber aufwiesen. Es nahm also die Menge an RNA in der Leber bei höherer Proteinzufuhr zu. Demgegenüber stand eine DNA-Abnahme bei höherer Proteinfütterung.

Eine Abnahme der Leber-DNA haben auch ENWONWU u. MUNRO (1970) festgestellt, die in ihrem Versuch 13 Tage lang eine 0,5 %ige Lactalbumin-Diät gaben; danach 13 Tage lang eine 18 % Protein-Diät und am Tag 1, 4, 8 und 13 der Wiederfütterung den DNA-Gehalt der Leber bestimmten. Dieser fiel mit zunehmender Proteinfütterung ab.

SACHAN (1975) gab eine im Proteingehalt extrem unterschiedliche Diät (42 %; 26 %; 3,5 %) für einen Zeitraum von 33 Tagen. Die Sprague-Dawley-Ratten waren bei Versuchsbeginn 21 Tage alt. Nach Beendigung des Versuches stellte er nur bei den mit 42 % Protein ernährten Tieren einen Abfall des DNA-Gehaltes der Leber fest.

(In allen erwähnten Arbeiten bezogen sich diese DNA-Veränderungen auf 1 g Leber. Der DNA-Abfall geschieht sicher nicht zuungunsten der Gesamt-Leber-DNA, da in allen Arbeiten das Gesamtlebergewicht bei vermehrt proteinhaltiger Diät ansteigt.)

Im Versuch von SACHAN hatte sich bei der 3,5 %igen Casein-Diät ein Lebergewicht von 2,21 g und ein DNA-Gehalt von 1,32 mg/g Leber, bei 26 % Casein ein Lebergewicht von 7,34 g und ein DNA-Gehalt von 1,22 mg/g Leber, bei 42 % Casein ein Lebergewicht von 9,36 g und ein DNA-Gehalt von 0,92 mg/g Leber ergeben.

ANTHONY und EDOZIEN (1975) gaben männlichen Ratten (bei Beginn 70 - 80 g schwer) Diäten mit gleichem Energiegehalt, aber mit unterschiedlichen Lactalbumin-Gehalten (0,5 %, 1 %, 2 %, 3 % und 18 %). Die Tiere mit dem geringen Proteingehalt in der Nahrung sistierten im Wachstum (nach 10 Wochen Versuchsdauer niedrigere Endgewichte als Ausgangsgewichte), hatten eine niedrigere Leber-Gesamt-DNA und niedrigere Lebergewichte. Der RNA-Gehalt/g Leber war konstant.

Der DNA-Gehalt/g Leber nahm wie in obenerwähnten Arbeiten mit höherem Proteingehalt ab - von 6,6 mg/g Leber bei 0,5 % Lactalbumin auf 2,8 mg/g Leber bei 18 % Lactalbumin. Allerdings war im zweiten Fall die Leber genau 10mal so schwer wie bei der 0,5 %igen Diät.

1974 haben GRIMBLE und DICKERSON in einem Ernährungsversuch mit 21 Tage alten Wistar-Ratten ähnliche Ergebnisse erzielt: Sie teilten die Tiere in 3 Gruppen und verfütterten 28 Tage lang

1. eine Kontrollldiät mit 21 % Protein
2. eine Diät, die 6 % Protein enthielt und Saccharose als Kohlehydratanteil
3. eine weitere Diät mit 6 % Protein und einem mit Diät 2 isoenergetischen Kohlehydratanteil aus Stärke

Sie bestimmten die Leber-DNA und stellten fest, daß die DNA-Werte bei den mit 6 % Protein ernährten Gruppen gegenüber den

mit 21 % Protein ernährten Tieren höher lagen, und zwar besonders zu Beginn der Diät; sie fielen dann ab, erreichten aber nicht die Werte der Kontrollgruppe. Die Durchschnitts-Körper- und Lebergewichte betrugen zum Ende des Versuchs bei der Kontrollgruppe das Zweieinhalbfache der proteinmangelernährten Tiere (241 g gegenüber 97 bzw. 99 g). Die Art des Kohlehydratanteils (Saccharose oder Stärke) spielte keine wesentliche Rolle.

Die zitierten Autoren verwendeten überwiegend Diäten mit extremen Proteingehalten (z. B. 0,5 % Lactalbumin - 42 % Casein). Veröffentlichungen, in denen Diäten mit geringeren Abstufungen im Protein- oder Energiegehalt verfüttert wurden, lagen nicht vor.

Rückschlüsse von tierexperimentellen Arbeiten auf die ernährungsphysiologische Situation fehlernährter Menschen werden aus verschiedenen Gründen erschwert. Versuchstiere, besonders Ratten, werden üblicherweise mit sogenannten Alleindiäten ernährt. Das Tier hat dabei keine Möglichkeit, durch die Auswahl verschiedener Komponenten das Protein-Energie-Verhältnis zu regulieren. Der fehlernährte Mensch hat in manchen Fällen doch die Wahl zwischen verschiedenen Ernährungsmöglichkeiten (z. B. Fehlernährung bei Teenagern). Ein großer Teil der zitierten Arbeiten gibt zwar die Zusammensetzung des Futters, nicht aber die tägliche Futteraufnahme an. Ohne diese Angabe läßt sich kaum ein Vergleich ableiten.

Zum Schluß noch einige Zahlenangaben von Autoren, die - im weiteren Sinne - ähnliche Versuchsansätze beschreiben:

Bei einer 10 % Protein beinhaltenden Futtermischung (CHATTERJE 1969) - verfüttert über 45 Tage, RNA-Extraktion nach der SCHMIDT/TANNHÄUSER-Methode - wurden durchschnittliche RNA-Werte von 13,7 mg/g Leber gefunden.

DNA-Gehalt bei dem gleichen Versuch: durchschnittlich 1,37 mg/g Leber.

CHATTERJE begann den Versuch mit 80 - 100 g schweren Ratten.

DAWSON (1972) berichtet über einen Abfall der RNA-Werte in der Rattenleber bei höherem Lebensalter der Tiere: 11,9 mg/g Leber bei 4 Wochen alten Tieren, 11,5 mg/g Leber bei 6, 10,3 mg/g Leber bei 8 und 9,9 mg/g Leber bei 12 Wochen alten Tieren.

Die DNA-Werte verhalten sich ähnlich:

2,29 mg/g Leber nach 4 Wochen, 2,13 mg/g Leber nach 6 Wochen,
1,87 mg/g Leber nach 8 Wochen, 1,14 mg/g Leber nach 12 Wochen.

2.4 Proteinmangel und Serumproteine

In der Literatur werden Veränderungen der Serumproteine bei Ratten, die mit ähnlichen Futtermischungen wie in der vorliegenden Arbeit ernährt wurden, nicht erwähnt.

Lediglich bei Hungerzuständen wird von erniedrigten Serumproteinwerten berichtet:

HAIDER (1969) schreibt in einer Arbeit, daß die Serumalbumine bei proteinfreier Diät reduziert sind. Bei Ratten, die mit 8 %, 27 % und 64 % Protein ernährt wurden, gab es jedoch keine wesentlichen Unterschiede im Albumingehalt im Serum.

Ähnliches berichtet ANTHONY (1975) über die Serumproteinwerte von Ratten, die mit verschiedenen Lactalbumingehalten im Futter ernährt wurden. Nur bei der Ernährung mit 0,5 % Lactalbumin ergab sich ein deutlicher Abfall der Serumproteine: bei 0,5 % Lactalbumin im Futter nach 8 - 10 Wochen Versuchsdauer ein Serumproteingehalt von 2,8 g/100 ml, bei 18 % Lactalbumin im Futter ein Serumproteingehalt von 6,8 g/100 ml.

Auch beim Menschen sind ernährungsbedingte Hypoproteinämien bekannt (Hungergebiete, Rußland-Heimkehrer), bei denen es durch Herabsetzen des kolloidosmotischen Drucks des Plasmas in den Kapillaren zur Flüssigkeitsretention im Gewebe kommt (Eiweißmangelödeme).

3 EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Material und Methoden

- 1 Versuchstiere
- 2 Futter
- 3 Versuchsdurchführung
- 4 Bestimmung der RNA- und DNA-Gehalte in den Rattenlebern
 - 4.1 Extraktion von RNA und DNA
 - 4.2 Herstellung der Reagenzien
 - 4.3 Farbstoffreaktionen und Standardwerte
 - 4.4 Berechnung der RNA- und DNA-Gehalte in den Rattenlebern
 - 4.5 Berechnung des Methodischen Fehlers
- 5 Bestimmung des Serum-Protein- und des Stickstoff-Gehalts der Rattenlebern
- 6 Statistik

3.1 Versuchstiere

Für die Untersuchungen wurden 200 männliche Ivv-Sprague-Dawley-Ratten eingesetzt. Die Tiere stammten aus der Zucht des Instituts für Versuchstierkunde der FU Berlin. Bei Versuchsbeginn waren die Tiere 21 Tage alt.

Aufzucht und Haltung erfolgten nach den Richtlinien der Gesellschaft für Versuchstierkunde unter spezifiziert pathogen-freien Bedingungen (SPF) hinter einem Barriersystem.

Je 5 Tiere wurden in einem Makrolon-Typ III-Käufig gehalten, als Einstreu diente autoklaviertes (20 Min. bei 134° C) Weichholzgranulat, das wöchentlich gewechselt wurde.

Die Temperatur im Tierraum betrug $21 \pm 1^\circ \text{C}$, die rel. Luftfeuchtigkeit $55 \pm 10 \%$, der Lichtrhythmus war auf 12:12 Stunden eingestellt.

Als Trinkwasser stand autoklaviertes (120° C, 20 Min.) Leitungswasser ad libitum zur Verfügung.

3.2 Futter

20 verschiedene Versuchsfuttermischungen wurden verwendet, die sich aus den Kombinationen von 4 Stufen verschiedener Proteingehalte mit 5 Stufen unterschiedlicher umsetzbarer Energien zusammensetzten.

Diese Mischungen basierten auf einer im Institut für Versuchstierkunde entwickelten halbsynthetischen Sojaprotein-Diät.

Folgende Rezepturen charakterisierten die Futtermischungen:

A Konstante Bestandteile (in % der Ration)

Saccharose	10
Sojaöl	6
Cellulosepulver	3
Vitamin-Vormischung	2
Mineralstoff-Vormischung	3
D-L-Methionin	0,25

Sie sind in allen Rationen gleich und betragen zusammen stets 24,25 % der Ration.

B Variable Bestandteile (in % der Ration; s. Tab. 1)

Sojamin ¹⁾	20,7 - 27,6
Maisstärke ²⁾	0,0 - 24,9
Hostalen ³⁾	29,9 - 49,4

Der Gehalt an verdaulichem Protein wurde durch die verschiedenen Sojaminszumischungen auf 18, 20, 22 und 24 % in den Diäten eingestellt.

Der Energiegehalt wurde mit Hostalenpulver als Ballaststoff von 2800 kcal umsetzbarer Energie bis auf 2000 kcal abgestuft.

Die Futtermischungen wurden als 10 mm Pellets dargereicht und zur Verwendung in der SPF-Tierhaltung mit Gammastrahlen (2,5 Mrad) sterilisiert.

1) Sojamin 90: Firma Edelsoja GmbH, Hamburg

2) Maisstärke: Maisstärkepulver, Hoffmann's Stärkefabriken AG
Bad Salzungen

3) Hostalen: Hostalen PPN 0160, Firma Hoechst, Frankfurt-Hoechst

3.3 Versuchsdurchführung

Der Fütterungsversuch wurde von Mitarbeitern des Instituts für Versuchstierkunde geplant und durchgeführt. Die Daten über Futterverbrauch und Körpergewichtsentwicklung der Ratten wurden mir zur Auswertung überlassen, wofür ich an dieser Stelle herzlich danke.

Je 10 Tiere wurden über 6 Wochen (vom 23. $\pm$ 1 bis zum 65. $\pm$ 1 Lebenstag) mit einem Futtertyp ad libitum gefüttert.

Die einzelnen Gruppen wurden zufällig auf die verschiedenen Futtertypen verteilt. Das Futter wurde abgewogen jedem Käfig zugeteilt. Nach jeweils einer Woche wurde der Futterverbrauch pro Käfig durch Zurückwiegen des verbliebenen Futters festgestellt und die Tiere einzeln gewogen.

Nach 6 Wochen wurden die Tiere aus den SPF-Räumen genommen und zur Tötung und Sektion in die Laborräume des Instituts gebracht.

Nach Chloroformnarkose wurden die Tiere gewogen und anschließend durch Herzpunktion entblutet.

Bei der Sektion wurde die Leber entnommen und gewogen.

Von jeder Rattenleber wurde ein ungefähr 1 g schwere Stück des Lobus Medialis entfernt und auf einer Analysenwaage auf 0,1 mg genau gewogen. Diese zur weiteren Aufarbeitung vorgesehenen Leberstücke und die Restlebern wurden einzeln in Petrischalen bei -70° C eingefroren.

Das entnommene Blut wurde nach der Gerinnung zentrifugiert, das so gewonnene Serum jedes Tieres bei -20° C eingefroren.

3.4 Bestimmung der RNA- und DNA-Gehalte in den Rattenlebern

3.4.1 Extraktion von DNA und RNA

RNA- und DNA-Bestimmung nach der modifizierten Methode nach SCHMIDT-THANNHÄUSER, beschrieben von MUNRO (1966).

Als Farbstoffreaktionen wurden verwandt:

Orcinol-Reaktion nach BROWN (1946)

Diphenylamin-Reaktion nach DISCHE und SCHWARZ (1937)

Die zu verarbeitenden Leberstücke wurden etwa 30 min. bei Zimmertemperatur aufgetaut, auf 0,1 mg Genauigkeit nachgewogen, und einzeln in Potter-Homogenisierungsgefäße gegeben und mit 5 ml 0,9 %iger NaCl-Lösung versetzt. Anschließend erfolgte Homogenisierung mit einem Ultra-Turrax Typ TP 18-10 (IKA-Werk Staufen i. Brsg.) bei 20 000 U/min.

Zur Beseitigung der säurelöslichen Verbindungen wurden von jedem Homogenat 2 Proben (je 1 ml als Doppelprobe) mit 2,5 ml kalter (+ 4° C) 10 %iger TCA (Trichloressigsäure) gemischt und mit einem Teflon-bezogenen elektrischen Rührstab aufgerührt. Danach wurde bei 4000 g zentrifugiert.

Der Rückstand wurde mit 2,5 ml 10 %iger TCA resuspendiert und wie oben zentrifugiert.

Zur Beseitigung der Lipid-Verbindungen wurde das Zentrifugat 2 mal mit 4 ml Äthanol (95 %) gewaschen.

Zur Entfernung evtl. verbliebener Lipid-Rückstände wurde das Zentrifugat mit 4 ml kochendem Äther-Äthanol-Gemisch (im Verhältnis 3:1) versetzt, 15 min. lang in einem Wasserbad von der Temperatur 65° C gekocht und erneut zentrifugiert.

Zur Isolierung der Nucleinsäuren wurde das Zentrifugat in 2,6 ml kalter (+ 4° C) 5 %iger TCA suspendiert.

Danach erfolgte 15minütiges Erhitzen in einem Wasserbad von 90° C. Dabei wurde nach 5 und nach 10 min. kurz aufgerührt. Danach erfolgte Zentrifugieren in oben beschriebener Weise von 20 min. Dauer. Der Überstand wurde aufbewahrt, das Zentrifugat ein weiteres Mal mit 2,6 ml 5 %iger TCA gewaschen. Überstand 2 und Überstand 1 wurden zu gleichen Teilen mitein-

ander vermischt.

0,5 ml des Gesamtüberstandes wurden zur RNA-, 1 ml zur DNA-Bestimmung weiterverwendet.

3.4.2 Herstellung der Reagenzien

A Herstellung des Orcinol-Reagenzes zur RNA-Bestimmung:

Lösung 1: 1 g Orcinol (Orcin Monohydrat Fa. Roth, Karlsruhe, Best.Nr. 1-4448) wurde in 100 ml a.bidest. gelöst.

Lösung 2: 0,9 g $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ wurden in 1 l konz. HCL (32 %) gelöst.

Kurz vor jeder Bestimmung wurden Lösung 1 und Lösung 2 im Verhältnis 1:5 vermischt. (=Orcinol-Reagenz.)

B Herstellung des Diphenylamin-Reagenzes zur DNA-Bestimmung:

1 g Diphenylamin wurde in 100 ml Eisessig gelöst.

Dazu wurden 1,5 ml konz. H_2SO_4 pipettiert. Diese Lösung mußte im Dunkeln aufbewahrt werden.

Direkt vor Gebrauch wurden zu 20 ml dieses Gemisches je 0,1 ml einer 1,6 %igen wässrigen Acetaldehydlösung gegeben.

3.4.3 Farbstoffreaktionen und Standardwerte

Orcinol-Farbreaktion:

Aus jedem Rattenleber-Überstand wurden 2 Proben genommen und folgendermaßen behandelt:

Der nucleinsäurehaltige Überstand (0,5 ml) aus dem oben beschriebenen Reinigungsverfahren wurde mit 1,0 ml a.bidest. verdünnt und mit 1,5 ml Orcinol-Reagenz versetzt. Dieses Gemisch wurde in verschlossenen Reagenzgläsern 20 min. lang im kochenden Wasserbad erhitzt und anschließend in einem kalten Wasserbad auf Zimmertemperatur abgekühlt.

Die Messung der Extinktion erfolgte mit einem Zeiss-Spektralphotometer bei 672 μm gegen eine Blindprobe (1,5 ml Orcinol-Reagenz + 1,5 ml a.bidest.).

Bei jedem Arbeitsgang wurden von 2 verschiedenen RNA-Standardlösungen fünf Kontrollwerte mitbestimmt.

DNA-Bestimmung:

Es wurden ebenfalls pro Rattenleber 2 Proteinansätze untersucht.

1 ml des Überstandes aus der vorangegangenen Nucleinsäureextraktion wurde mit 2 ml Diphenylamin-Reagenz vermischt und für 24 Std. bei 30° C inkubiert.

Die Bestimmung der Extinktion erfolgte bei 600 μm mit dem Zeiss-Spektralphotometer gegen einen Reagenzien-Lösungswert (1,5 ml Diphenylamin-Reagenz + 1,5 ml a.bidest.).

Bei jedem Arbeitsgang wurden von 2 verschiedenen DNA-Standardlösungen 4 Kontrollwerte mitbestimmt.

Standardlösungen:

RNA-Standard (aus Hefe; Fa. Serva Feinbiochemica Heidelberg, p.A. 34404) wurde in 0,15 molarer NaCl im Verhältnis 0,4 mg/1 ml gelöst. Von dieser Lösung wurden Verdünnungsstufen von 0,2 bis 0,02 mg/ml in 0,02 mg/ml-Stufen hergestellt. Zu je 1,5 ml dieser Verdünnungen wurden 1,5 ml Orcinol-Reagenz gegeben. In verschlossenen Reagenzgläsern wurden die Mischungen im kochenden Wasserbad 20 min. lang erhitzt, dann auf Zimmertemperatur abgekühlt und gegen eine Blindprobe (1,5 ml H_2O + 1,5 ml Orcinol-Reagenz) bei 672 μm in einem Zeiss-Spektralphotometer gemessen.

DNA-Standard wurde in 0,15 molarer NaCl auf eine Konzentration von 0,543 mg/ml eingestellt. Von dieser Lösung ging eine geometrische Verdünnungsreihe bis 1/1024, also 0,0005 mg/ml in die Versuchsreihe ein.

Je 1 ml der Lösung wurden mit 2 ml Diphenyl-Reagenz vermischt und 24 Std. lang bei 30° C inkubiert.

Die Bestimmung der Extinktion erfolgte mit dem Zeiss-Spektralphotometer bei 600 μ m gegen H₂O.

Einfluß der Lagerung

Zur Ermittlung des Einflusses verschiedener Temperaturen wurden eine 0,2- und eine 0,1 mg/ml RNA-haltige Lösung 1.) frisch nach dem Ansetzen, 2.) nach 25 Tagen bei -22° C, bei 0° C und bei Zimmertemperatur gemessen.

Es zeigte sich, daß bei der Lagerung ohne Kühlung starke, bei 0° C-Kühlung mittlere RNA-Verluste auftreten. Die Lagerung bei -20° C hatte keinen Abfall der RNA-Konzentration zur Folge.

Weiterhin wurde überprüft, ob der RNA-Gehalt in Leberstücken durch Einfrieren und Auftauen abnimmt.

Dazu wurden 5 Ratten die Lebern entnommen, und aus jeder Leber aus einem ca. 1 g schweren Stück die RNA extrahiert und bestimmt. Der Rest der Leber wurde eingefroren. Nach einem Tag wurde den wieder aufgetauten Lebern erneut ein ca. 1 g schweres Stück entnommen und einer RNA-Extraktion und -Bestimmung unterzogen.

Es zeigte sich kein Abfall der RNA. Teilweise erhöhte Werte legen die Vermutung nahe, daß die RNA-Verteilung innerhalb einer Leber unter Umständen nicht gleich ist.

RNA-Gehalt in verschiedenen Leberbezirken

Aus einer Rattenleber (s. Abb. 1) wurden in 5 verschiedenen Bezirken Proben entnommen und einer RNA-Bestimmung unterzogen. Mit Ausnahme des SPIGEL'schen Lappens wurden annähernd gleiche Gehalte an RNA bestimmt. Der Bezirk mit dem höchsten RNA-Gehalt, der rechte Teil des Lobus medialis, wurde in den folgenden Versuchen für alle Bestimmungen verwendet.

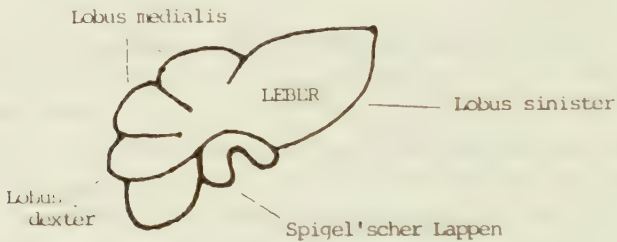


Abbildung 1

3.4.4 Berechnung der RNA- und DNA-Gehalte in den Rattenlebern

In einem Vorversuch wurden die Extinktionen der RNA- und DNA-haltigen Farbstofflösungen in Abhängigkeit von der Konzentration bekannter RNA- und DNA-Standardlösungen überprüft. Zwischen Extinktion und RNA- bzw. DNA-Menge besteht ein linearer Zusammenhang, der durch die allgemeine Gleichung $y = a + b \cdot x$ beschrieben werden kann.

Da beide Bezugsgeraden durch den Koordinaten-Nullpunkt gehen, kann der Koeffizient a vernachlässigt werden.

Zur Berechnung von Proteinmengen aus gemessenen Probeextinktionen genügt hier die Kenntnis des Steigungskoeffizienten b (= Ext. Stand. dividiert durch $mg_{\text{Stand.}}$).

Dieser Steigungskoeffizient wurde an jedem Arbeitstag als Mittelwert aus den Extinktionen der 5fachen Bestimmung einer RNA- bzw. DNA-Standardlösung berechnet.

Die Berechnung der mg -Werte pro g Rattenleber aus den gemessenen Extinktionen der Proben erfolgte in zwei Schritten:

$$a) \quad mg_{\text{Probe}} = \frac{\text{Ext. Probe} \times mg_{\text{Stand.}}}{\text{mittl. Ext. Stand.}}$$

$$b) \quad mg/g \text{ Leber} = \frac{mg_{\text{Probe}} \times \text{Verdünnungsfaktor}}{g \text{ Leberprobe}}$$

Der RNA- als auch DNA-Gehalt jeder Rattenleber wurde in jeweils 2 getrennten Proben bestimmt. Als tatsächliche Werte der Tiere wurden die arithmetischen Mittelwerte der Doppelbestimmungen berechnet und die Differenz der Doppelbestimmungen zur Berechnung des methodischen Fehlers benutzt.

3.4.5 Berechnung des Methodischen Fehlers

Die RNA- und DNA-Bestimmung wurde jeweils aus 185 Leberproben im Doppelansatz durchgeführt.

Aus den quadrierten Differenzen der Doppelbestimmungen wurde nach PFLANZ (1973) der methodische Fehler wie folgt berechnet:

$$S_{\text{Fehler}} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_{i1} - x_{i2})^2}{2n}}$$

x_{i1} = 1. Wert der Bestimmung der i-ten Probe

x_{i2} = 2. Wert der Bestimmung der i-ten Probe

n = Anzahl der Proben

Es ergab sich für

RNA: $S_{\text{Fehler}} = 0,560 \text{ mg/g Leber}$

DNA: $S_{\text{Fehler}} = 0,095 \text{ mg/g Leber}$

Allg. Epidemiologie. Aufgaben, Technik, Methodik (Thieme, S. 236)
Stuttgart 1973

3.5 Bestimmung des Serum-Gesamteiweiß- und des Stickstoff-Gehaltes der Rattenlebern

Die Serumproteinbestimmung erfolgt mit der Biuret-Methode (Merckotest-Satz).

Bei 130 wiederaufgetauten Lebern wird eine Gesamtstickstoffbestimmung angeschlossen. (Rapid-N, Fa. Herraeus, Osterode/Harz).

3.6 Statistik

Zur Darstellung der Ergebnisse der RNA- und DNA-Bestimmungen werden die Werte in Klassen eingeteilt (Zahl der Klassen Wurzel aus Anzahl Werte; Klassenbreite Spannweite dividiert durch Zahl der Klassen). Die Häufigkeit der Werte in den Klassen wird ausgezählt, wobei Werte auf einer Klassengrenze grundsätzlich zur nächsthöheren Klasse gezählt werden. Für die Histogramme werden die relativen Häufigkeiten in den Klassen berechnet.

Für den statistischen Vergleich der RNA- und DNA-Gehalte zwischen den Versuchsgruppen werden nicht-parametrische Verfahren angewendet, da in der Literatur keine Hinweise zu finden waren, ob diese Meßgrößen als normalverteilt anzusehen sind. Für die Überprüfung von Mittelwertsunterschieden wird der U-Test von Wilcoxon-Mann-Whitney benutzt, für die Prüfung von Streuungsunterschieden der Rangdispersionstest von Siegel und Tukey.

Für die Körpergewichtsentwicklung, die Lebergewichte, die Serum-Gesamteiweiß- und die Stickstoff-Gehalte in den Rattenlebern werden Konfidenzintervalle berechnet.

Hierfür wird aus den Einzelmittelwerten der Gruppen das Gesamtmittel berechnet und die gewogene Gesamtstreuung aus den Varianzen der Gruppen.

Als Signifikanzniveau wird einheitlich 5 % verwendet.

4 ERGEBNISSE

Gliederung

- 4.1 Gesamtfutterraufnahme
- 4.2 Gesamtenergieaufnahme
- 4.3 Gesamtproteinaufnahme
- 4.4 Gesamtenergieaufnahme ohne Proteinenergie
- 4.5 Körpergewichtszunahmen
- 4.6 Lebergewichte bei Versuchsende
- 4.7 Zunahmen und Energie/Proteinquotient
- 4.8 Zusammenfassung der Untersuchungen
 "Grobkriterien"
- 4.9 Einteilung der Ratten in Zunahmegruppen
- 4.10 Gesamtproteingehalt der Rattenserum
- 4.11 Stickstoffgehalt der Rattenlebern
- 4.12 RNA- und DNA-Gehalt der Rattenlebern
- 4.13 Zusammenfassung der Ergebnisse
 "Feinkriterien"

4.1 Gesamtfutterraufnahme

Der Futterverzehr nimmt mit steigendem Energiegehalt des Futters deutlich ab: Futterraufnahme 1330,6 g bei 2000 kcal/kg Futter, 1052,5 g bei 2800 kcal/kg (Tabelle 2).

Bei steigendem Proteingehalt sind unterschiedlich große Schwankungen des Futterverzehrs innerhalb der Energiestufen feststellbar. Eine systematische Beeinflussung des Futterverzehrs vom Proteingehalt der Diäten kann jedoch nicht gesehen werden.

4.2 Gesamtenergieaufnahme

Die aufgenommenen Mengen an umsetzbarer Energie (UE) schwanken innerhalb der Proteinstufen und auch innerhalb der Energiestufen (Tabelle 3).

Zur Abschätzung des Zufallsschwankungsbereichs (3 σ -Intervall) wurden die Reststreuungen für Energieaufnahmen, Proteinaufnahmen und Gewichtszunahmen (Tab. 3, 4, 5 und 6) nach der von COX (1958) angegebenen Residual-Methode berechnet.

Berücksichtigt man das Schwankungsintervall, so ergibt sich, daß 14 Gruppen innerhalb des Zufallsbereichs um 2740 kcal liegen. 4 Gruppen liegen ober- und 2 Gruppen unterhalb der Grenzwerte.

Für die während des Versuchs aufgenommenen Gesamtenergiemengen gibt es keine systematischen Unterschiede zwischen den Diäten.

4.3 Gesamtproteinaufnahme

Erhebliche Unterschiede bestehen zwischen den Gruppen für die während des Versuchs aufgenommenen Proteinmengen (Tabelle 4). Je mehr Energie die angebotene Diät enthielt, desto weniger Protein wurde konsumiert. Bei isokalorischen Diäten stieg der

Proteinkonsum mit der Konzentration des Rohproteinanteils an. Nur 4 Gruppen liegen mit ihrem Proteinkonsum innerhalb des Zufallsbereichs um 242 g; oberhalb und rechts der Diagonalen von 18/2000 zu 24/2800 wurde überdurchschnittlich viel Protein verzehrt, unterhalb und links dieser Linie war der Proteinverzehr geringer als 242 g.

4.4 Gesamtenergieaufnahme ohne Proteinenergie

Berechnet man diejenigen Energiemengen, die die Tiere in Form von Kohlehydraten und Fett zu sich genommen hatten - Gesamtenergie minus ($\text{gProtein} \times 4,3 \text{ kcal}$) - ergeben sich die in Tabelle 5 dargestellten Zahlen.

Diese aufgenommenen Energiemengen nehmen mit steigendem Rohproteinanteil ab, sowohl innerhalb der Zellen (waagrecht) als auch im Spaltenmittel.

Mit zunehmendem Energiegehalt der Diäten steigt die aufgenommene Energiemenge abzüglich Proteinenergie systematisch an.

4.5 Körpergewichtszunahmen

Die in den 6 Versuchswochen erreichten Körpergewichtszunahmen sind deutlich von den eingesetzten Diäten abhängig (Tabelle 6).

Mit steigendem Energiegehalt werden die Zunahmen größer, mit steigendem Proteingehalt verringern sich die Zunahmen.

Diese Beobachtung ist sowohl an den Spalten- und Zeilenmitteln zu machen, als auch für die einzelnen Proteinstufen (Spalten) und für die 5 Energiestufen (Zeilen) richtig.

Diagonal von 18 % RP/2000 kcal zu 24 % RP/2800 kcal verläuft ein Band mit etwa gleichen Zunahmen um das Gesamtmittel 246,6 g.

Über und rechts von dieser Diagonalen liegen unterdurchschnittliche Zunahmen, unter und links von der Diagonalen sind überdurchschnittliche Zunahmen erreicht worden.

4.6 Lebergewichte bei Versuchsende

Die absoluten Lebergewichte unterscheiden sich nicht systematisch zwischen den Diäten (Tabelle 7a).

Die Berechnung der relativen Lebergewichte ergibt ein etwas anderes Bild (Tabelle 7b).

Hier sind überdurchschnittlich hohe relative Lebergewichte in den Gruppen zu finden, deren Gewichtszunahmen unterdurchschnittlich waren, und unterdurchschnittliche relative Lebergewichte bei den Tieren mit der größeren Gewichtsentwicklung.

4.7 Zunahmen und Energie/Protein-Quotient

Die Zunahmeunterschiede treten als Folge unterschiedlicher Energie/Protein-Quotienten der Diäten auf.

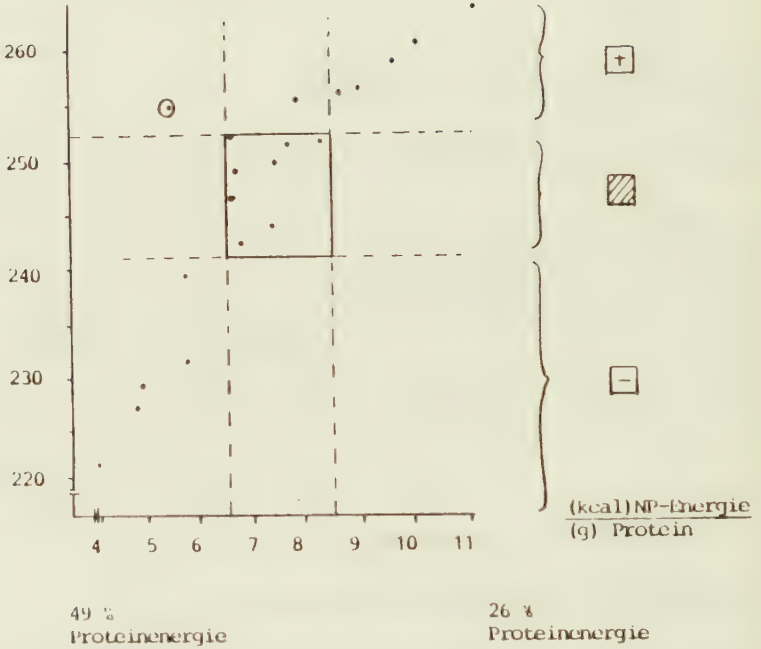
Den Zusammenhang zeigt Abbildung 2 eindeutig:

Je mehr Kohlehydrat- und Fettenergie pro g Protein aufgenommen wurde, desto größer waren die Zunahmen (Quotienten 8,5).

Durchschnittliche Zunahmen wurden zwischen 6,5 und 8,5 kcal/g Protein erreicht.

Geringe Zunahmen ergaben sich bei Quotienten unter 6,5 kcal/g Protein.

(g) Zunahme



Zu Abbildung 3: Beziehung zwischen Energie/Protein-Quotient im Futter und der PER

Die PER (= Proteinwirkungsverhältnis, Proteinverwertung), gibt die Gewichtszunahme pro Proteinaufnahme an.

Diese Zahl ist demzufolge bei den Tieren am größten, die große Gewichtszunahme bei wenig Protein in der Nahrung aufweisen. Das sind aber auch gleichzeitig die Gruppen, die den größten Energie/Protein-Quotienten haben (z. B. die Gruppe mit 2800 kcal bei 18 % Protein in der Diät).

D. h. je mehr Energie in der Nahrung, desto besser wird vorhandenes Protein ausgenutzt und es resultiert besseres Wachstum.

Zu Abbildung 4: Beziehung zwischen Energie/Protein-Quotient im Futter und Gewichtsentwicklung während des Versuchs

Diese Beziehung ist nicht linear, d. h. oben genannte These gilt nur für einen Bereich von 110 bis 140 für die Relation zwischen Kalorien und Rohprotein.

Darüber hinaus nimmt die Steigung der Kurve ab, das Wachstum wird bei noch mehr Energie bei weniger Protein nicht weiter ansteigen.

GUZY (1975) nennt einen Energie/Protein-Quotienten von 180 optimal, allerdings für die Zucht.

Zu Abbildung 5: Die wöchentliche Energieaufnahme steigert sich nur bis zu einem Körpergewicht von etwa 200 g und bleibt dann konstant.

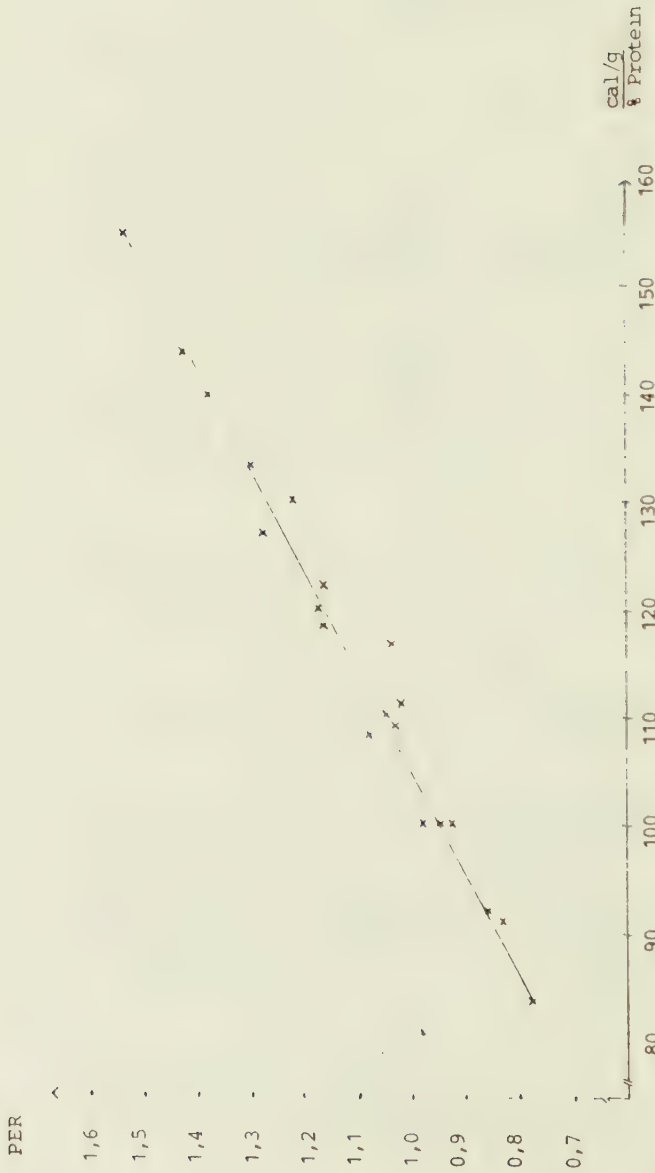


Abbildung 3: Beziehung zwischen Energie/Proteinquotient im Futter und der PER

Körpergewicht
9.-3. Lebenswoche
(g)

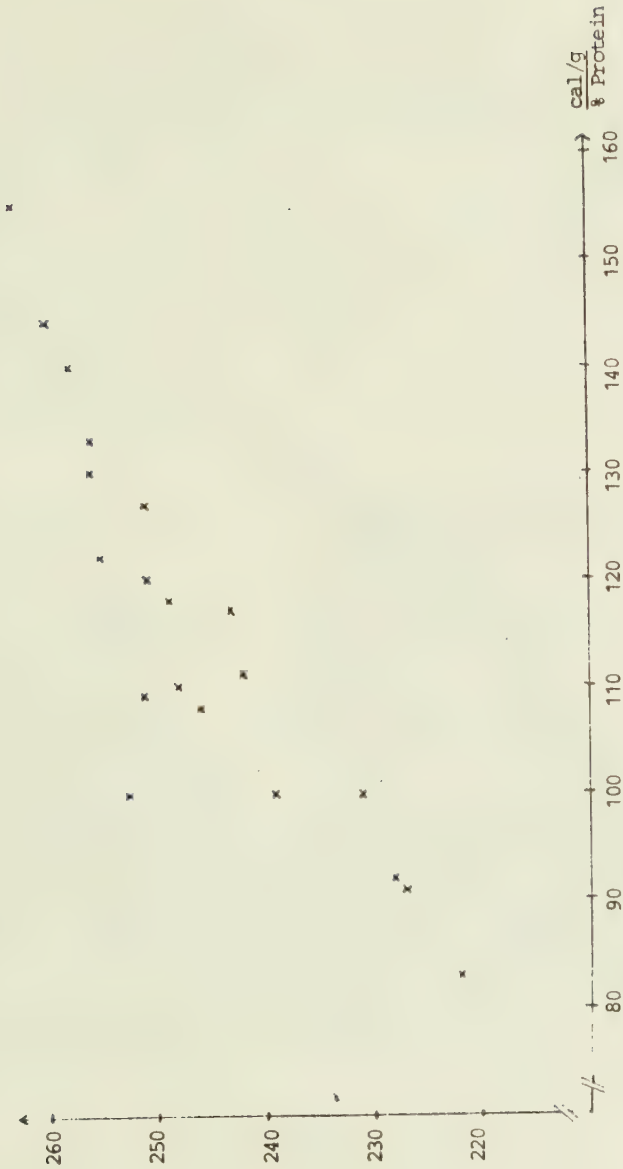


Abbildung 4: Beziehung zwischen Energie/Proteingquotient im Futter und Gewichtsentwicklung während der Versuche

Wöchentliche
Energieaufnahme
[kcal]

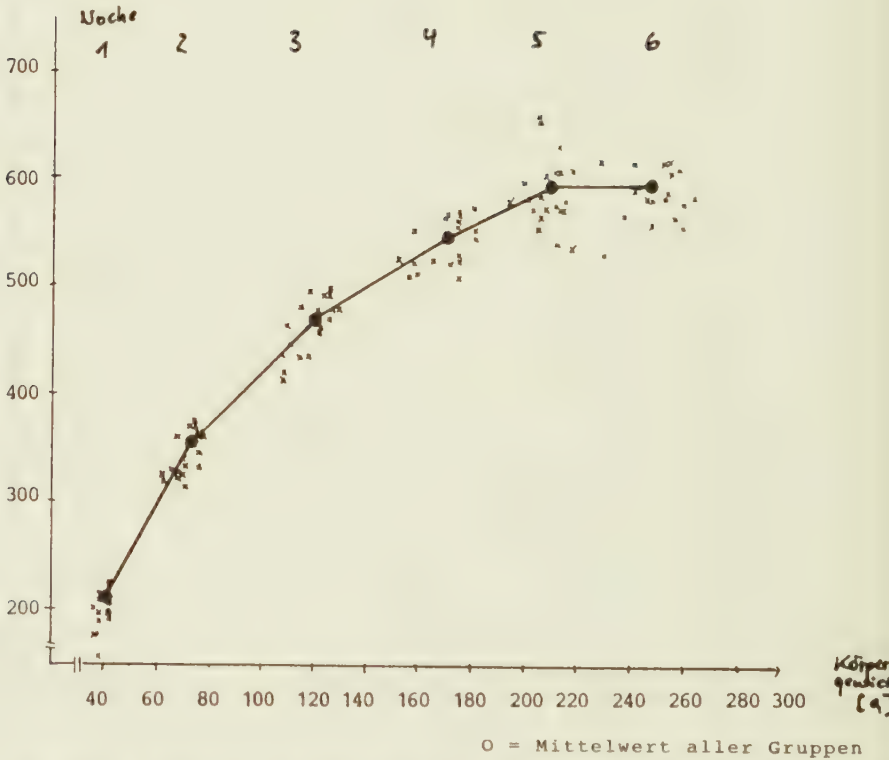


Abbildung 5 Beziehung zwischen Körpergewicht und Energieaufnahme
Körpergewicht zu Beginn der jeweiligen Woche

4.8 Zusammenfassung der Ergebnisse

In einfachen Grafiken sollen die Meßergebnisse des Fütterungsversuchs zusammengefaßt werden.

	=	durchschnittlich
	=	überdurchschnittlich
	=	unterdurchschnittlich

1) Gesamtenergieaufnahme

	18	20	22	24
2000		-	-	
2200	+		+	-
2400				
2600		+		-
2800	-			

Abbildung 6

Bei ad libitum-Fütterung richtete sich bei Ratten die aufgenommene Futtermenge nach der damit verbundenen Energieaufnahme.

Die Tiere haben die Energiedifferenzen zwischen den Diäten durch unterschiedlichen Futterverzehr weitgehend ausgeglichen.

Der Ausgleich ist in der 2400 kcal-Stufe und in der 20 % bzw. 22 % Rohprotein-Stufe am deutlichsten zu sehen.

2) Gesamtproteinaufnahme

	18	20	22	24
2000	+	+	+	+
2200	/	/	+	+
2400	-	-	+	+
2600	-	-	/	/
2800	-	-	-	-

Abbildung 7

Die energiegesteuerte Nahrungsaufnahme führte zu erheblichen Unterschieden in der Proteinaufnahme.

In den niedrigen Energiestufen wurde mehr Protein mitverzehrt.

Bei den hohen Energiestufen ergab sich eine Verminderung der Proteinaufnahme.

3) Energieaufnahme ohne Protein-energie

	18	20	22	24
2000	/	-	-	-
2200	+	-	/	-
2400	+	/	/	-
2600	-	-	/	-
2800	-	-	/	/

Abbildung 8

Die steigenden Rohproteinanteile in den Diäten führten dazu, daß bei gleichen Mengen aufgenommener Gesamtenergie die nicht aus Protein stammende, leichter verfügbare KH- und Fettenergie zwischen den Gruppen variierte, und zwar systematisch im Sinne einer diagonalen Aufteilung.

4) Zunahmen

	18	20	22	24
2000	diagonal	-	-	-
2200	+	diagonal	+	-
2400	+	diagonal	diagonal	-
2600	+	+	diagonal	diagonal
2800	+	+	diagonal	diagonal

Abbildung 9

Die aus den unterschiedlich aufgenommenen Mengen an wertbestimmenden Futteranteilen resultierenden Zuwachsraten verhielten sich ganz im Sinne des zuvor Beschriebenen:

von 18/2000 zu 24/2800 gab es einen diagonal verlaufenden Bereich gleicher Zuwachsraten.

Im Bereich rechts von der Diagonalen hatten die Tiere bei etwa gleicher Gesamtenergieaufnahme weniger KH- und Fett-Energie, dafür aber mehr Protein aufgenommen.

Als Folge davon lagen ihre Zuwachsraten unter dem Durchschnitt.

Als Ausnahme mußte die Gruppe 22/2200 gesehen werden, die infolge des großen Futterverzehrs besonders viel Energie und damit auch mehr KH- und Fett-Energie aufgenommen hat (s. auch Abb. 2 Energie/Proteinquotient).

Unterhalb der Diagonalen finden wir überdurchschnittliche Zuwachsraten bei sehr hohen KH- und Fett-Energieaufnahmen und entsprechend geringerer Proteinaufnahme.

4.9 Einteilung der Ratten in Zunahmegruppen

Tabelle 9: Mittlere Zunahme und Aufnahmemengen pro Tier
in den 3 Zunahmegruppen

	+		-
Zunahme (g)	257	248	229
Protein (g)	221	236	282
Gesamtenergie (kcal)	2868	2705	2618
NP-Energie (kcal)	1918	1690	1405
Anzahl der Tiere	70	78	47
Anzahl der Futtergruppen	7	8	5

Da eine vorläufige Auswertung der Mittelwerte der Feinkriterien DNA und RNA (Tab. 8a und 8b) in den 20 Futtergruppen keinen systematischen Einfluß zeigt, werden zur Darstellung der Untersuchungsergebnisse der Feinkriterien die 20 Futtergruppen in 3 Zunahmegruppen zusammengefaßt. (Durchschnittliche, über- und unterdurchschnittliche Zunahme, s. 4.8).

Diese Einteilung wird wegen der deutlichen Blockbildung in den Abbildungen 8 und 9 vorgenommen. Die Gruppe der Tiere, die durchschnittlich zugenommen haben, reichen diagonal von niedriger Energie- und Proteinaufnahme zu hoher Energie- und Proteinaufnahme. Die Tiere, die überdurchschnittliche Zuwachsraten aufweisen, liegen unterhalb dieser Diagonalen, die Tiere mit unterdurchschnittlichen Zuwachsraten liegen oberhalb der Diagonalen.

Eine ähnliche Blockbildung ergibt sich bei der Energieaufnahme ohne Proteinenergie (Abb. 8).

Wie Tab. 9 zeigt, ergibt die Aufteilung der 20 Futtergruppen in 3 Blöcke entsprechende Gesamt-Mittelwerte.

Das Gesamtmittel der Zunahme ist bei den Tieren mit überdurchschnittlichen Zuwachsraten höher als bei den Tieren mit durchschnittlichen Zuwachsraten, diese wiederum höher als bei den Tieren mit unterdurchschnittlichem Zuwachs.

Entsprechend verhalten sich die Mittelwerte der aufgenommenen Gesamtenergie und der NP-Energie.

Die Mittelwerte der aufgenommenen Proteinmenge verhalten sich dagegen umgekehrt: die Tiere mit überdurchschnittlicher Zuwachsrate haben insgesamt weniger Protein aufgenommen als die Tiere mit durchschnittlicher Zuwachsrate, diese wiederum weniger als die Tiere mit unterdurchschnittlicher Gewichtszunahme.

4.10 Gesamtproteingehalt der Rattenserum

Tabelle 10: Mittlere Serumproteinwerte in den 3 Zunahmegruppen

Zunahme	n	$\bar{x}$ (g/100ml)	s
	60	6,5	0,5
	78	6,5	0,6
	48	6,4	0,5

95 %-Konfidenz-Intervall $6,36 \leq 6,5 \leq 6,63$

In Tabelle 10 sind die mittleren Serumproteinwerte der Ratten zusammengestellt, die durchschnittlich, über- und unterdurchschnittlich zugenommen haben. Zum Vergleich sind die oberen und unteren Grenzwerte des 95 %-Konfidenz-Intervalls für das Gesamtmittel angegeben.

Die Unterschiede der verzehrten Protein- und Energiemengen in den 3 Zunahmegruppen führten zu keiner Veränderung des Gesamtproteinspiegels in den Rattenserum.

Insbesondere ist die Tatsache erwähnenswert, daß der Verzehr von ca. 30 % mehr Protein (Gruppe $\blacksquare$ gegen $\square$) sich nicht auf den Serumspiegel ausgewirkt hat.

4.11 Stickstoffgehalt der Rattenlebern

Tabelle 11: Mittlere Leber-N-Gehalte in den 3 Zunahmegruppen

Zunahme	n	$\bar{x}$ (%N/g)	s
	39	35,7	7,2
	46	38,0	7,0
	33	36,1	6,7

95 %-Konfidenz-Intervall $34,5 \leq 36,7 \leq 38,9$

Die Unterschiede der mittleren Leber-N-Gehalte zwischen den 3 Zunahmegruppen sind geringfügig. Die 3 Mittelwerte liegen innerhalb des 95 %-Zufallsbereiches, eine systematische Beeinflussung des Leber-N-Gehaltes durch die verschiedenen Diäten kann nicht beobachtet werden.

Es konnten allerdings nicht alle Leber-N-Werte der einzelnen Tiere bestimmt werden, da infolge eines technischen Zwischenfalls die fehlenden Lebern vor der N-Bestimmung unbrauchbar wurden.

4.12 RNA- und DNA-Gehalt der Rattenlebern

In Abbildung 10 sind die relativen Häufigkeiten der RNA- und DNA-Werte, die in den 3 Zunahmegruppen beobachtet wurden, als Histogramme aufgezeichnet. Es fällt auf, daß die Werte in allen 3 Gruppen zwar eingipflig, aber unsymmetrisch verteilt sind: Bei den RNA-Werten liegt eine Rechtsschiefe, bei den DNA-Werten eine Linksschiefe vor. Wegen dieser von der Normalkurve abweichenden Verteilung werden für den Vergleich zwischen den Gruppen Rangstatistiken benutzt.

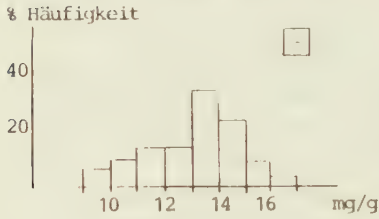
Sowohl die mittleren RNA- als auch die mittleren DNA-Werte pro g Leber unterschieden sich zwischen den 3 Futtergruppen praktisch nicht. Die 95 %-Konfidenz-Intervalle der entsprechenden Medianwerte der Zunahmegruppen überdecken sich fast vollständig (Tabelle 12 a und 12b).

Dagegen scheint die Streuung der RNA- und DNA-Werte bei denjenigen Tieren höher zu sein, die unterschiedlich zugenommen und wesentlich mehr Protein konsumiert hatten.

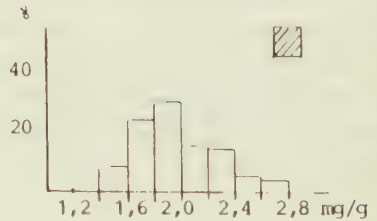
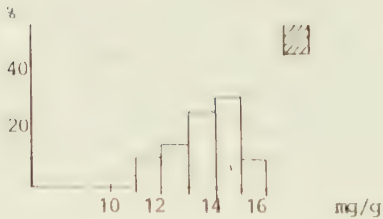
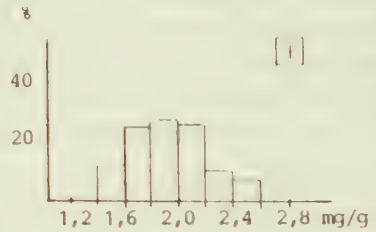
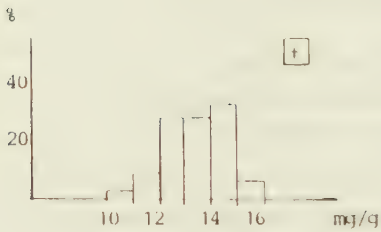
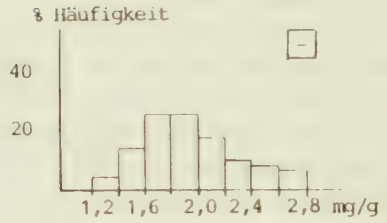
So ist das Histogramm der Zunahmegruppe  im Vergleich zur Zunahmegruppe  breiter und die Spannweite (R) der Zunahmegruppe  in Abb. 10 deutlich höher.

Zur Absicherung dieses vermuteten Streuungsunterschiedes wurde für die RNA- und DNA-Werte der Tiere aus den Gruppen mit der überdurchschnittlichen und unterdurchschnittlichen Gewichtszunahme ein Rangdispersionstest (SIEGEL und TUKEY) durchgeführt. Hierbei ergaben sich keine signifikanten Unterschiede der Streuungen ($\hat{\sigma} = 1,15$ für RNA; $\hat{\sigma} = 1,57$ für DNA; $z_0 = 1,65$ für $p < 0,05$).

RNA-Gehalt pro g Leber
nach Zunahme gruppiert



DNA-Gehalt pro g Leber
nach Zunahme gruppiert



4.13 Zusammenfassung der Ergebnisse "Feinkriterien"

Durch keines der untersuchten Feinkriterien (Gesamtprotein-gehalt im Serum, Stickstoffgehalt der Leber, RNA, DNA) konnten die bei dem Grobkriterium Wachstum festgestellten Differenzen zwischen den Gruppen bestätigt werden.

Obwohl die gewählten Zunahmegruppen erhebliche Unterschiede aufweisen, was die aufgenommene Menge von Protein bzw. NP-Energie betrifft, sind ihre Mittelwerte der Feinkriterien fast völlig gleich.

Die Vermutung, daß durch übermäßige Proteinzufuhr während der Wachstumsperiode die Variabilität der Meßwerte solcher Feinkriterien vergrößert wird, läßt sich in keinem Fall bestätigen.

5 DISKUSSION

Wie aus den in Tabelle 2 und 3 dargelegten Ergebnissen hervorgeht, ist eine systematische Beeinflussung des Verbrauchs an Futter durch hier untersuchte verschiedene Gemengeanteile an Protein nicht festzustellen.

In der Versuchstierernährung bekannte Verzehrdepressionen beim Angebot von Hochprotein-diäten treten im hier zu diskutierenden Rahmen nicht auf (SCHARRER, 1967).

Der unterschiedliche Gehalt an Energie im Futter führt zu entsprechend verschiedener Futterverbrauchs menge (Tabelle 2), weil die Tiere durch ihr Freßverhalten, das eine gleichbleibende Energieversorgung gewährleisten soll, diese Unterschiede ausgleichen.

Das entspricht bekannten Ergebnissen. Auch GUZY und RAPP (1975) bestätigen, daß die Futterverzehrmenge bei ad libitum mit Alleinfutter ernährten Ratten vom Energiegehalt des Futters wesentlich mitbeeinflußt wird.

Trotz vergleichbarer Versorgung mit umsetzbarer Energie führt die Erhöhung des Protein-Energie-Gehaltes im Futter von 26 % (bei 18 % verdaulichem Protein und 2800 kcal) auf 49 % der Gesamtenergie (bei 24 % verdaulichem Protein und 2000 kcal) zu einer Reduzierung der Körpergewichtsentwicklung um 16 % (Tabelle 6 u. Abbildung 2).

Dies ist auf eine Minderversorgung an für das Wachstum erforderlicher verfügbarer Energie um 57 % zurückzuführen.

PAYNE (1967) berechnete, daß ein optimales Protein-Energie-Verhältnis im Futter besteht, wenn der Energieanteil eines zu 100 % verfügbaren Proteins etwa 30 % des Gesamtenergiegehaltes ausmacht.

Durch Proteinübersversorgung traten in der von mir untersuchten Wachstumsphase Depressionen in der Körpergewichtsentwicklung auf.

Wird eine Beurteilung des Energie/Protein-Quotienten (Abb. 3) über die PER (Protein Efficiency Ratio) versucht, so ergibt sich ein linearer Bezug zwischen Proteinverwertung und dem Energie/Protein-Quotienten. Da diese lineare Beziehung sich über alle eingesetzten Futtermischungen erstreckt, kann geschlossen werden, daß höhere Energiegehalte im Futter zu einer noch besseren Proteinverwertung geführt hätten.

Die in Abb. 4 gezeigte Beziehung zwischen dem Energie/Protein-Quotienten im Futter und der Gewichtszunahme kann, wenn überhaupt, nicht mehr durch eine lineare Regression charakterisiert werden. Im Zusammenhang mit der in Abb. 5 dargestellten Beziehung zwischen Körpergewicht zu Beginn jeder Versuchswoche und der Energieaufnahme in dieser Woche könnte geschlossen werden, daß der relative Energiebedarf mit zunehmendem Gewicht des Tieres niedriger wird. Dieser geringere Energiebedarf wäre dann auch die Ursache für den nichtlinearen Verlauf der Kurve.

Dies würde bedeuten, daß in vorliegendem Versuch ab einem Körpergewicht der Ratten von 200 g der Energiebedarf nicht weiter ansteigt. Die Voraussetzung für diesen Schluß wäre allerdings, daß die Tiere auch ihren tatsächlichen Energiebedarf decken können.

Aufgrund der hohen Hostalenanteile in den Futtermischungen muß jedoch berücksichtigt werden, daß die Tiere ab einem bestimmten Körpergewicht die nötige tägliche Futtermenge möglicherweise nicht mehr aufnehmen konnten. Die zu Versuchsende registrierten täglich aufgenommenen Futtermengen überschreiten die bisher bei Ratten bekannten täglichen Futteraufnahmen um das 2- bis 4-fache.

Die nicht wachsende Energieaufnahme (Abb. 5) kann aus diesem Grund auch ein oberes Limit der Aufnahmekapazität und nicht einen relativ sinkenden Energiebedarf darstellen.

Eine Umrechnung der Energieaufnahme auf das jeweilige metabolische Körpergewicht verändert die oben erwähnten Relationen nicht. Es ist zwar anzunehmen, daß bei erwachsenen Ratten, bedingt durch ein günstigeres Oberflächen/Volumenverhältnis, geringere Bewegungsaktivität und bedingt durch eine höhere Käfiginnentemperatur (EICHBERG/GRUBER, 1974) der relative Energiebedarf geringer wird. Ob das von mir beobachtete Abflachen der Kurve bei 200 g schweren Tieren dem tatsächlichen Energiebedarf entspricht, bleibt jedoch offen.

Bei den relativen Lebergewichten kann festgestellt werden, daß die Tiere mit der besten Gewichtsentwicklung $\oplus$ die niedrigsten relativen Lebergewichte aufweisen und die Tiere mit dem schlechtesten Wachstum $\ominus$ die höchsten Lebergewichte haben. Da jedoch die absoluten Lebergewichte keine systematische Beeinflussung durch die Diäten zeigen, folgt daraus nur, daß das Ergebnis der relativen Lebergewichte das Spiegelbild der Gewichtsentwicklung darstellt.

Demgegenüber zeigen die Serumproteinwerte keine Veränderungen. Es gibt keinen Anhaltspunkt für eine Beeinflussung dieses Parameters durch die unterschiedlichen Futtermischungen. Auch in der Literatur fanden sich bei vergleichbaren Diäten keine wesentlichen Unterschiede bei den Serumproteinwerten. Erst bei nahezu proteinfreier Ernährung sinken die Serumproteine ab (HARDER, 1969; ANTHONY, 1975).

Entgegen den Erwartungen sind auch die RNA- und DNA-Gehalte in der Leber unter allen Gruppen gleichmäßig verteilt. Es gibt keine Reihung und keinen Anhalt dafür, daß RNA und DNA in den hier durchgeführten Versuchen bei unterschiedlicher Protein- und Energieaufnahme unterschiedliche Werte erzielen.

Die RNA-Werte bewegen sich zwischen 12,30 und 13,96 mg/g Leber. Bei vergleichbaren Versuchen in der Literatur findet man Angaben, die unter Berücksichtigung des Alters der Tiere mit den von mir gemessenen Werten übereinstimmen.

Die DNA-Werte liegen zwischen 1,77 und 2,09 mg/g Leber. Die niedrigeren DNA-Werte bei CHATTERJE (1,37 mg/g Leber) könnten den Grund haben, daß er den Versuch mit schwereren Ratten (80 - 100 g) begonnen hat, während in vorliegender Arbeit mit Absatzratten von ca. 40 g begonnen wurde. Auch DAWSON gibt an, daß er bei jüngeren Ratten höhere DNA-Werte, allerdings auch RNA-Werte, gefunden hat. Er verfütterte eine nicht näher definierte Standarddiät.

GRIMBLE begann seinen Versuch auch mit Absatzratten, benutzte aber eine andere Bestimmungsmethode und erhielt Werte um 2,4 mg/DNA/g Leber. Er stellte fest, daß selbst bei großen Unterschieden im Proteingehalt des Futters (6 % bis 21 %) sich sehr geringe Unterschiede im DNA-Gehalt der Leber ergeben.

Auch ANTHONY führte einen Versuch mit verschiedenen Proteinabstufungen in der Ernährung, allerdings bei anfangs 70 - 80 g schweren Ratten durch. Seine Ergebnisse weichen von denen der vorliegenden Arbeit am meisten ab (5,6 - 6,6 mg RNA/g Leber und 2,8 - 6,6 mg DNA/g Leber gegenüber 12,30 - 13,96 mg RNA/g Leber und 1,77 - 2,09 mg DNA/g Leber).

Im Literaturstudium konnte keine Arbeit gefunden werden, bei der die Tiere früher aus dem Versuch genommen und untersucht wurden.

Die Tendenz, daß bei älteren Tieren, unabhängig von der Diät, die RNA- und DNA-Gehalte in der Leber einen relativ konstanten Wert erreichen, ist abzusehen.

Daraus könnte man den vorsichtigen Schluß ziehen, daß es eventuell bei früherem Versuchsabschluß in vorliegender Arbeit bei den unterschiedlichen Proteinabstufungen in der Ernährung Unterschiede in den RNA- und DNA-Gehalten in der Leber gegeben hätte.

Eine definierte und gleichbleibende Nährstoffversorgung ist demnach mit eine Voraussetzung für die Reproduzierbarkeit von Ergebnissen tierexperimenteller Untersuchungen.

6 ZUSAMMENFASSUNG

200 männliche Ivv-Sprague-Dawley-Ratten werden ab dem 21. Lebenstag in 10er Gruppen 6 Wochen lang mit 20 verschiedenen Versuchsfuttermischungen ernährt. Die Futtermischungen unterscheiden sich hinsichtlich ihres Proteingehalts (18, 20, 22, 24 % Protein) und Gehaltes an umsetzbarer Energie (2000, 2200, 2400, 2600, 2800 kcal/kg) und sind miteinander kombiniert; z. B. 18 % Protein mit 2000 kcal, 18 % Protein mit 2200 kcal, usw.

Untersucht werden die Gesamtaufnahme an Futter, an umsetzbarer Energie, an Protein, an Energie ohne Proteinenergie, die Körpergewichtszunahmen, die Lebergewichte, der Gesamtproteingehalt der Rattenserum, der Stickstoffgehalt der Rattenlebern und der RNA- und DNA-Gehalt der Rattenlebern.

Es werden folgende Ergebnisse erzielt:

1. Die Gesamtfutteraufnahme wird vom Proteingehalt der Nahrung nicht beeinflusst, jedoch vom Energiegehalt: Bei steigendem Energiegehalt nimmt die Futteraufnahme ab.
2. Die Gesamtaufnahme an umsetzbarer Energie schwankt zwar innerhalb der Ernährungsstufen, es ergeben sich aber keine signifikanten Unterschiede.
3. Die Gesamtproteinaufnahme verhält sich umgekehrt proportional zum Energiegehalt der angebotenen Diät.
4. Die Gesamtenergieaufnahme ohne Proteinenergie nimmt mit steigendem Proteinanteil ab.
5. Die Körpergewichtszunahmen werden mit steigendem Proteingehalt der Diäten deutlich geringer, während sie bei steigendem Energiegehalt größer werden.

6. Die Lebergewichte bei Versuchsende unterscheiden sich innerhalb der verschiedenen Gruppen nicht.
7. Signifikante Unterschiede im RNA- und DNA-Gehalt der Rattenlebern wrden in den untersuchten Protein- und Energiestufen nicht erzielt.
8. Auch der Stickstoffgehalt der Lebern und die Serumproteine bleiben bei vorliegenden Futtermischungen weitgehend konstant.

7 LITERATURVERZEICHNIS

ANTHONY, L.E., EDOZIEN, J.C.:

Experimental Protein and Energy Deficiencies in the Rat.
J. Nutr. 105, 631 - 48 (1975)

ALLISON, J.B. et al.:

Dietary Proteins Correlated with Ribonuclease, Ribo
Nucleic Acid and Tissue Proteins.
J. of Nutr. 78, 333 - 337 (1962)

BROWN, A.H.: Orcinol-Reaktion.

Ibid. 11, 269 (1946)

CHATTERJEE, A.K., ROY, A.D., GHOSH, B.B.:

Effects of Riboflavin Deficiency on Nucleic Acid
Metabolism of Liver in the Rat.
Brit. J. Nutr. 23, 657 - 63 (1969)

DALLMAN, P.R., MANIES, E.C.:

Protein Deficiency: Contrasting Effects on DNA and RNA
Metabolism in Rat Liver.
J. Nutr. 103, 1311 - 18 (1973)

DALLMAN, P.R., SPIRITO, R.A., SIIMES, M.A.:

Diurnal Patterns of DNA-Synthesis in the Rat: Modifica-
tion by Diet and Feeding Schedule.
J. Nutr. 104, 1234 - 1241 (1974)

DAWSON, R.:

Nucleic Acid and Protein Concentrations in the Livers
of Rats of Different Ages and Different Diets.
"Meeting of 2" (June 1972)

DISCHE, Z., SCHWARZ, K.: Diphenylamin-Reaktion.

Mikrochim. Acta 2, 13 (1937)

DOBBING, J.:

Vulnerable Periods in Developing Brain.
Applied Neurochemistry, 287 - 316 (1968)

EICHBERG, GRUBER, F.:

Persönliche Mitteilung.

ENWONWU, C.O., MUNRO, H.N.:

Rate of RNA turnover in rat liver in relation to
intake of protein.
Arch. Biochem. 138, 532 - 39 (1970)

GRIMBLE, R.F., DICKERSON, J.W.T.:

The Influence of Iso-Energetic Amounts of Sucrose and
Starch on Serum Albumin Concentrations and Liver Compo-
sition of Weanling Rats Given a Low-Protein Diet.
Nutr.Metabol. 17, 272 - 81 (1974)

GUZY, J.K. und RAPP, K.:

Zum Energie- und Proteinbedarf der Han: Sprague-Dawley-
Ratte während der Aufzucht und Zucht.
Tierlaboratorium 2, 44 - 57 (1975)

HAIDER, M., TARVER, H.:

Effect of Diet on Protein Synthesis and Nucleic Acid
Levels in Rat Liver.
J. Nutr. 99, 433 - 45 (1969)

HOBİK, H.P., HOBİK, E., GRUNDMANN, E.:

Der Einfluß von Hunger und Wiederfütterung auf die DNA
und Kerntrockenmasse der Rattenleber.
Acta Histochem. (Jena), Suppl. 13, 159 - 64 (1973)

MUNRO, H.N. et al.:

The influence of energy intake on ribonucleic acid
metabolism.
Biochem. J. 54, 198 - 205 (1953)

MUNRO, H.N., FLECK, A.:

Recent development in measurements of nucleic acids
in biological materials.

Analyst 91, 78 (1966)

PATTEN, J.A.:

Spleen and Liver Responses of Protein-depleted Rats
to Dietary Egg Protein.

P.S.E.B.M. 144, (1973)

PAYNE, P.R.:

The Relationship between Protein and Calorie
Requirements of Laboratory Animals.

In: Conatly, M.L., Husbandry of Laboratory Animals.
Academic Press, London a. New York

PFLANZ, M.:

Allgemeine Epidemiologie. Aufgaben, Technik, Methodik.
236, Thieme, Stuttgart (1973)

SACHAN, D.S.:

Effects of Low and High Protein Diets on the Induction
of Microsomal Drug-metabolizing Enzymes in Rat Liver.

J. Nutr. 105, 1631 - 39 (1975)

SCHARRER, E., ZUCKER, H.:

Untersuchungen über den Verzehrrückgang bei protein-
reicher Ernährung.

Zt. Tierphys., Tierern. u. Futtermittelkde. 23, 169
(1967)

SCHMIDT, G., THANNHÄUSER, S.J.:

A method for the determination of DNA, RNA and phospho-
proteins in animal tissues.

J. Biol. Chem. 161, 83 (1945)

SIEGEL, TUKEY: (Rangdispersionstest)

THALHAMMER, O.: Embryonale und fetale Schädigungen durch
mütterlichen Nährstoffmangel.
Pränatale Erkrankungen des Menschen S. 182 - 211 (1967)

WINICK, M.:
Fehlernährung und das Nervensystem bei Tieren und
Menschen.
Perinatale Medizin 4, 295 - 297 (1972)

WINICK, M. et al.:
Cellular response in rats during malnutrition at
various ages.
J. Nutr. 89, 300 - 306 (1966)

WILCOXON-MANN-WHITNEY: (U-Test)

ZEMENHOF et al.:
Study of Factors Influencing Prenatal Brain Development.
Mol. Cell. Biochem. 4, 157 - 68 (1974)

Tabelle 1: Variable Bestandteile der Futtermischungen
in % der Ration

umsetzbare Energie Kcal/kg	variable Bestand- teile	<u>%-Anteil verdaulichen Proteins</u>			
		18	20	22	24
2000	Sojamin	20,7	23,0	25,3	27,6
	Maisstärke	5,7	3,5	1,3	0,0
	Hostalen	49,4	49,3	49,2	48,2
2200	Sojamin	20,7	23,0	25,3	27,6
	Maisstärke	10,5	8,3	6,1	3,9
	Hostalen	44,6	44,5	44,4	44,3
2400	Sojamin	20,7	23,0	25,3	27,6
	Maisstärke	15,3	13,1	10,9	8,7
	Hostalen	39,8	39,7	39,6	39,5
2600	Sojamin	20,7	23,0	25,3	27,6
	Maisstärke	20,1	17,9	15,7	13,5
	Hostalen	35,0	34,9	34,8	34,7
2800	Sojamin	20,7	23,0	25,3	27,6
	Maisstärke	24,9	22,6	20,4	18,2
	Hostalen	30,2	30,1	30,0	29,9

Tabelle 2: Gesamtfutterraufnahme in g pro Tier
von der 3. bis zur 9. Lebenswoche

RP ‰ kcal/kg	18	20	22	24	Zeilen- mittel
2000	1418,5	1298,5	1278,5	1327,0	1330,6
2200	1315,0	1199,5	1314,1	1189,1	1254,4
2400	1165,4	1116,2	1182,1	1110,0	1143,4
2600	1065,0	1106,1	1048,5	1002,0	1055,4
2800	1106,0	1058,0	1026,1	1019,6	1052,5
Spalten- mittel	1214,0	1155,6	1170,0	1129,5	1167,26
					Gesamt- mittel

Tabelle 3: Gesamtenergieaufnahme in kcal pro Tier
von der 3. bis zur 9. Lebenswoche

RP % kcal /kg	18	20	22	24	Zeilen- mittel
2000	2837	2597	2557	2654	2661,25
2200	2893	2639	2891	2616	2759,75
2400	2797	2679	2837	2664	2744,25
2600	2769	2876	2726	2605	2744,00
2800	3097	2751	2668	2651	2791,75
Spalten- mittel	2878,6	2708,4	2735,8	2638,0	2740,20
					Gesamt- mittel

3 σ -Intervall für mittlere Energieaufnahme bei n=10:

$$2847,4 \leq 2740,2 \leq 2633$$

Tabelle 4: Gesamtproteinaufnahme in g pro Tier
von der 3. bis zur 9. Lebenswoche

RP % kcal /kg	18	20	22	24	Zeilen- mittel
2000	255,0	259,7	281,0	318,0	278,4
2200	236,7	240,0	289,0	285,0	262,7
2400	209,7	223,2	260,0	266,0	239,7
2600	191,7	221,2	232,0	240,0	221,0
2800	199,0	196,5	209,6	227,5	208,5
Spalten- mittel	218,4	228,1	254,0	267,3	242,0
					Gesamt- mittel

3 σ -Intervall für mittlere Proteinaufnahme bei n=10:

$$252,1 \leq 242,0 \leq 231,8$$

Tabelle 5: Energieaufnahme ohne Proteinenergie in kcal
pro Tier von der 3. bis zur 9. Lebenswoche

RP % kcal/ /kg	18	20	22	24	Zeilen- mittel
2000	1740,5	1480,3	1348,7	1286,6	1464,1
2200	1875,2	1607,0	1648,3	1390,5	1630,2
2400	1895,3	1719,2	1719,0	1520,2	1713,4
2600	1944,7	1924,8	1734,4	1573,0	1794,2
2800	2241,3	1906,0	1766,7	1672,7	1896,7
Spalten- mittel	1939,4	1727,5	1643,4	1488,6	1699,7
					Gesamt- mittel

3 σ -Intervall für Energieaufnahme ohne Proteinenergie
bei n=10: $1766 \leq 1699 \leq 1633$

Tabelle 6: Körpergewichtszunahme in g pro Tier
von der 3. bis zur 9. Lebenswoche

RP % kcal/kg	18	20	22	24	Zeilen- mittel
2000	242	231	227	222	230,50
2200	255	248	255	228	246,50
2400	256	251	252	239	249,50
2600	260	256	249	246	252,75
2800	263	258	251	243	253,75
Spalten- mittel	255,2	248,8	246,8	235,6	246,60
					Gesamt- mittel

3 σ -Intervall für mittlere Zunahme bei $n=10$:

$$252,5 \leq 246,6 \leq 240,7$$

Tabelle 7a: Absolute Lebergewichte in g

RP % kcal/kg	18	20	22	24	Zeilen- mittel
2000	12,61	13,37	12,84	13,76	13,23
2200	14,49	14,49	13,66	13,76	13,88
2400	13,26	14,09	14,10	13,92	13,81
2600	13,93	14,35	13,40	13,17	13,31
2800	13,94	13,54	13,44	13,37	13,50
Spalten- mittel	13,65	13,97	13,49	13,60	13,65
					Gesamt- mittel

3 σ -Intervall für mittlere Lebergewichte in g bei n=10:

$$13,3 \leq 13,65 \leq 14,0$$

Tabelle 7b: Relative Lebergewichte in % des Körpergewichts

RP % kcal/kg	18	20	22	24	Zeilen- mittel
2000	4,14	4,57	4,58	4,76	4,49
2200	4,52	4,64	4,38	4,74	4,53
2400	4,12	4,52	4,47	4,57	4,43
2600	4,31	4,48	4,36	4,36	4,42
2800	4,27	4,26	4,34	4,45	4,32
Spalten- mittel	4,27	4,49	4,43	4,58	4,44
					Gesamt- mittel

3 σ -Intervall für mittlere relative Lebergewichte bei n=10:

$$4,32 \leq 4,44 \leq 4,56$$

Tabelle 8a: Arithmetisches Mittel des RNA-Gehaltes
in mg/g Leber

RP %	18	20	22	24
kcal/kg				
2000	13,78 [*]	13,38	13,13 [*]	13,96 [*]
2200	13,12	13,11 [*]	13,54	12,56 [*]
2400	13,33	13,31	12,30	13,66
2600	12,63	13,61	13,40	13,73
2800	13,76	13,87	13,52	13,88
	n=10	[*] n=9		

Tabelle 8b: Arithmetisches Mittel des DNA-Gehaltes
in mg/g Leber

RP %	18	20	22	24
kcal/kg				
2000	1,85 ^x	1,82	1,96 ^x	1,84 ^x
2200	1,95	1,77 ^x	2,00	1,82 ^x
2400	1,79	1,81	1,77	2,00
2600	1,90	1,83	1,96	1,95
2800	1,93	1,94	1,97	2,09
	n=10	^x n=9		

Tabelle 12a: RNA-Werte in den Zunahmegruppen (mg/g Leber)

	n	Min.	1.Quart.	Med.	3.Quart.	Max.	R
	70	10,27	12,63	13,55	14,35	15,31	5,04
	80	10,14	12,73	13,65	14,37	15,52	5,38
	47	9,39	12,50	13,74	14,42	16,05	6,66

95 %-Konfidenz-Intervalle der RNA-Medianwerte

untere Grenze $\leq$ Median $\leq$ obere Grenze¹⁾

	13,08	$\leq$	13,55	$\leq$	13,99
	13,09	$\leq$	13,65	$\leq$	13,95
	13,13	$\leq$	13,74	$\leq$	13,96

¹⁾ s. SACHS (1973) Schranken für den Vorzeichentest
Tab. 69, S. 248

Tabelle 12b: DNA-Werte in den Zunahmegruppen (mg/g Leber)

	n	Min.	1.Quart.	Med.	3.Quart.	Max.	R
	70	1,51	1,79	1,93	2,09	2,58	1,07
	80	1,48	1,74	1,91	2,10	2,65	1,17
	47	1,43	1,72	1,89	2,10	2,94	1,51

95 % Konfidenz-Intervalle der DNA-Medianwerte

untere Grenze $\leq$ Median $\leq$ obere Grenze

	1,87	$\leq$	1,93	$\leq$	2,00
	1,82	$\leq$	1,91	$\leq$	1,99
	1,77	$\leq$	1,89	$\leq$	1,97

DANKSAGUNG

Herrn Professor Dr. M. Merkschlagger danke ich für die Überlassung des Themas und für die Arbeitsmöglichkeiten im Institut.

Besonders danke ich Herrn Dr. F. Gruber und seiner Frau U. Gruber, sowie Herrn Dr. L. Dietzel-Röhl und Herrn Dr. H.-H. Hiller für die jederzeit gewährte fachliche und menschliche Unterstützung.

Ebenso danke ich allen Mitarbeitern des Instituts, die mir bei der technischen Durchführung und Anfertigung der Arbeit behilflich waren, insbesondere Frau E. Loyd.

LEBENS LAUF

2. Nov. 1948 geboren in Feilnbach (Oberbayern)
- 1955 Einschulung in München
- 1959 - 1968 Gymnasien in München, Hamburg, Berlin
- 1968 Reifeprüfung an der Sophie-Scholl-Schule in Berlin
- 1968 - 1970 Ausbildung zur Abteilungsleiterin im Einzelhandel
- 1970 Beginn des Medizinstudiums in Berlin
- 1972 - 1976 Klinischer Teil des Studiums und studentische Tutorin im Physiologisch-Chemischen Praktikum für Mediziner
- 1976 Staatsexamen
- 1976 - 1977 Medizinalassistentenzeit im St. Gertrauden-Krankenhaus und Rudolf-Virchow-Krankenhaus in Berlin
- Januar 1978 Approbation als Ärztin
- 1978 - 1980 Assistenzärztin im Fach Gynäkologie und Geburtshilfe
- 1979 Geburt eines Sohnes
- 1980 - 1982 Betriebsärztin im Rudolf-Virchow-Krankenhaus
- Seit Juli 1982 Weiterführung der Facharztausbildung für Gynäkologie und Geburtshilfe im Rudolf-Virchow-Krankenhaus in Berlin

alldruck-druckerei burckhard zöllner
hindenburgdamm 136, 1-45
tel. 833 26 76

